

**Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro**

**RUDYMILLA CUNHA CORDEIRO**

**APLICABILIDADE DO USO DO FUNGO NEMATÓFAGO *Duddingtonia  
flagrans* NO CONTROLE DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE  
OVINOS NO NORTE FLUMINENSE.**

**Campos dos Goytacazes,  
2008.**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**RUDYMILLA CUNHA CORDEIRO**

**APLICABILIDADE DO USO DO FUNGO NEMATÓFAGO *Duddingtonia flagrans* NO CONTROLE DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE OVINOS NO NORTE FLUMINENSE.**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Produção Animal, na área de concentração de Sanidade Animal.

**ORIENTADOR: Dr. CLÓVIS DE PAULA SANTOS**

**Campos dos Goytacazes,  
2008.**

**RUDYMILLA CUNHA CORDEIRO**

**APLICABILIDADE DO USO DO FUNGO NEMATÓFAGO *Duddingtonia flagrans* NO CONTROLE DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE OVINOS NO NORTE FLUMINENSE.**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Produção Animal, na área de concentração de Sanidade Animal.

**Aprovada em: 25/03/2008**

**BANCA EXAMINADORA:**

---

**Antonio Henrique de Almeida Moraes Neto (Dr. Ciências) – FIOCRUZ**

---

**Antonio Peixoto Albernaz (Dr. Produção Animal) – UENF**

---

**Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues (Dr. Ciências Veterinárias) –  
UFRRJ**

---

**Clóvis de Paula Santos (Dr. Medicina Veterinária – Parasitologia  
Veterinária) – UFRRJ (Orientador)**

## DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais Aauto e Marly;  
Meu marido Winner;  
Minhas irmãs Raquel, Raqueline e Renata;  
Em especial, dedico a DEUS.

## **AGRADECIMENTO**

Agradeço ao meu orientado, Professor Clóvis de Paula Santos, pela colaboração, paciência e amizade, que proporcionaram a realização desse trabalho;

Aos meus amigos de laboratório: Daniela, Sabrina, Sérgio, Letícia, Phillipe e Edízio, por incontáveis colaborações;

Aos motoristas da UENF pela segurança e amizade durante as viagens;

As fazendas Beira do Taí e Fazenda Quissamã que proporcionaram o espaço físico para realização desse trabalho;

Enfim, agradeço a UENF pelo apoio financeiro e condições para execução desse projeto.

## RESUMO

*Duddingtonia flagrans* tem sido o principal fungo nematófago estudado na última década para o controle de verminose em ruminantes. Neste estudo, avaliou-se a sobrevivência do micélio e clamidósporos de *D. flagrans* após passagem pelo trato digestório de ovinos, bem como o efeito da suplementação diária de uma formulação contendo o fungo em ovinos no município de Campos dos Goytacazes – Norte Fluminense. Para o teste de sobrevivência, uma suspensão na dose de 500 mil clamidósporos por Kg de peso vivo foi administrada via oral durante três dias a três ovinos. Volume semelhante de suspensão contendo micélio foi administrado a três ovinos enquanto a outros três não foram administrados fungo. Durante todo o experimento, foram coletadas amostras fecais para OPG e cultivo de fezes em placas e copos. No grupo tratado com clamidósporos, houve uma redução de 30%, 63% e 30% de larvas infectantes (L<sub>3</sub>) e crescimento do fungo em placas. Para avaliar o efeito da suplementação diária do fungo, dez animais receberam diariamente uma suplementação alimentar contendo o fungo *D. flagrans* na dose de 500 mil clamidósporos por Kg de peso vivo durante cinco meses consecutivos. Outros dez animais não receberam esse suplemento e serviram de controle. A contagem de ovos por grama de fezes, cultivos de fezes, pesagem dos animais e larvas na vegetação foram realizadas durante o período experimental. No grupo tratado houve uma redução no número de larvas L<sub>3</sub> obtidas nos cultivos fecais e vegetação. Não houve diferença significativa no ganho de peso dos animais. *D. flagrans* demonstrou-se eficaz no controle de nematóides gastrintestinais de ovinos no município de Campos dos Goytacazes, sendo essa eficácia atribuída, sobretudo aos clamidósporos.

Palavras – chaves: *Duddingtonia flagrans*, fungos nematófagos, ovinos, ruminantes.

## ABSTRACT

*Duddingtonia flagrans* has been being the main nematophagous fungi studied in the last decade for control of verminosis in ruminant. This work evaluated the survival capacity and maintenance of the predatory activity of mycelium and chlamyospores of *D. flagrans* after passage through the digestive tract of sheep, and the effect of a fungus suspension, in Campos dos Goytacazes, North region of the state of the Rio de Janeiro. For the survival test, a suspension of 500 000 chlamyospores or mycelium per Kg of body weight was administered orally for three consecutive days to a group of 3 sheep. The control group (3 animals) did not received fungus. Fecal samples were collect for determination of the presence of the fungus, EPG and infective larvae (L3). In the treated group, there was a reduction of 30%, 63% and 30% of the infective larvae and growth of the fungus in plates was observed. To evaluate the effect of daily administration of the fungus for five months, ten animals received daily an alimentary containing the fungus *D. flagrans* dose of 500 000 chlamyospores per Kg of body weight. Ten others animals did not receive this supplement and served of control. The counting of EPG, fecal cultivations, weight of the animals and number of larvae in the vegetation were accomplished during the experimental period. In the treated group existed a reduction in the number of L<sub>3</sub> obtained after fecal cultivations and vegetation. There was no significant difference in the weight gain of the animals. *D. flagrans* demonstrated an effective control of gastrointestinal nematodes in sheep in Campos dos Goytacazes, being this effectiveness attributed mostly to chlamyospores.

Keywords: *Duddingtonia flagrans*, nematophagous fungi, sheep, ruminants.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fungo ovicida mostrando suas hifas aderidas a um ovo de um nematóide.....	12
Figura 2 – Fungo endoparasita <i>Harposporium anguillulae</i> desenvolvendo-se no nematóide <i>Panagrellus spp</i> .....	13
Figura 3 – Fungo predador do gênero <i>Arthrobotrys</i> capturando uma larva infectante de <i>Panagrellus spp</i> através de anéis contritores tridimensionais.....	14
Figura 4 – Fungo predador <i>Duddingtonia flagrans</i> .....	20
Figura 5 – <i>D. flagrans</i> crescendo em meio à base de cereal milho.....	22
Figura 6 – Percentual de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de ovinos em cultivos fecais oriundos de animais tratados e não tratados com fungos.....	28
Figura 7 - Percentual de larvas infectantes nos grupos tratado e controle. ....	30
Figura 8 – Variação da média de peso dos ovinos durante o período experimental.....	31

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1</b>	<b>Caracterização dos fungos nematófagos .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2</b>	<b>Uso de fungos para o controle de nematóides gastrintestinais ...</b>	<b>15</b>
<b>2.3</b>	<b>Aspectos gerais de <i>D. flagrans</i> .....</b>	<b>19</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>28</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>32</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>33</b>
	<b>ANEXO .....</b>	<b>42</b>

## 1 – INTRODUÇÃO

Os nematóides gastrintestinais representam um dos principais problemas para a produção de ruminantes, pois provoca diversas patologias as quais interferem no ganho de peso, ingestão de alimentos, utilização de matéria seca, retardo na idade reprodutiva, decréscimo na capacidade reprodutiva e mortalidade em animais seriamente infectados (CHARLES, 1992). No Brasil, onde a maioria da população de caprinos e ovinos deslanados está concentrada nas zonas áridas e semi-áridas do Nordeste, a doença é reconhecida há muito tempo como um entrave à produção de pequenos ruminantes na região (PADILHA,1996). No Norte Fluminense, dados relacionados ao parasitismo começaram a ser disponibilizados somente nesta década (CRUZ et al., 2004, SANTOS et al., 2003, PERES, 2006).

A redução do número de larvas infectantes de nematóides nas pastagens é um dos objetivos do controle das verminoses. Essa redução é obtida através da aplicação de anti-helmínticos nos hospedeiros em épocas que as condições ambientais são desfavoráveis ao desenvolvimento dos estádios de vida livre. O uso do anti-helmíntico visa à eliminação da população de adultos no hospedeiro. Assim, uma menor quantidade de ovos é liberada ao exterior, onde as condições de desenvolvimento e sobrevivência são prejudiciais aos estádios pré-parasitários, ocorrendo, portanto uma redução da população de larvas disponíveis (PADILHA, 1996).

A presença de resistência aos anti-helmínticos pelos parasitos e o alto custo destes produtos são algumas desvantagens do seu uso (CAMPOS et al., 1992). A resistência ocorre quando a população de nematóides que é normalmente suscetível ao tratamento anti-helmíntico perde a suscetibilidade através da seleção de nematóides resistentes (PEÑA et al., 2002). Isto tem estimulado um intenso interesse em métodos alternativos para o controle parasitário (WAGHORN et al., 2003). Uma alternativa é o uso de espécies de fungos nematófagos, os quais se desenvolvem nas fezes do animal e matam larvas de parasitas em desenvolvimento (LARSEN, 2000).

Muitas espécies de microfungos são capazes de predar e matar os estádios larvais em desenvolvimento no ambiente fecal, mas somente o fungo

*Duddingtonia flagrans* tem demonstrado possuir alto grau de sobrevivência através do trato gastrintestinal de ruminantes (LARSEN et al., 1992a). Após esta passagem, seus esporos germinam nas fezes, formando redes tridimensionais especializadas, as quais predam as larvas do parasito (LARSEN et al., 1997).

*Duddingtonia flagrans* além de produzir micélio e conídios (esporos) tem a capacidade de produzir clamidósporos, um tipo de esporo de parede espessa e resistente, que garante sua maior capacidade de sobrevivência após passagem pelo trato digestório de ruminantes (LARSEN, 1992a; GRØNVOLD et al., 1993; FAEDO et al., 1997; LARSEN et al., 1998).

Em um estudo realizado na região Norte Fluminense administrando *D. flagrans* em ovinos, três vezes na semana, foi obtido um percentual de 44% de redução na carga parasitária dos animais tratados e um ganho de peso superior comparado ao controle (CORDEIRO et al., 2004).

Este trabalho tem o objetivo de verificar o efeito da suplementação diária de *D. flagrans* a ovinos na região bem como a capacidade de sobrevivência do micélio ao trânsito gastrintestinal de ovinos.

## 2 - REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 – Caracterização dos fungos nematófagos

Fungos nematófagos são aqueles capazes de infectar e se alimentar de nematóides. Eles vivem na matéria orgânica onde desenvolvem relações parasíticas ou predatórias com os nematóides (BARRON, 1977). De acordo com sua maneira de agir, eles são divididos em três grupos diferentes: os ovicidas, os endoparasitas e os predadores.

Os fungos nematófagos ovicidas produzem hifas que se fixam nos ovos (Figura 1). Inicialmente é estabelecido um ponto de contato entre a hifa e a superfície do ovo. Em seguida, o fungo forma uma dilatação nesse ponto e danifica o complexo quitina-proteína da casca do ovo, provavelmente mediante a ação de enzimas, facilitando a penetração. Após a penetração, o fungo forma ramos micelares no interior do ovo consumindo o embrião, que pode sofrer o ataque em qualquer estágio de desenvolvimento (PADILHA, 1996).

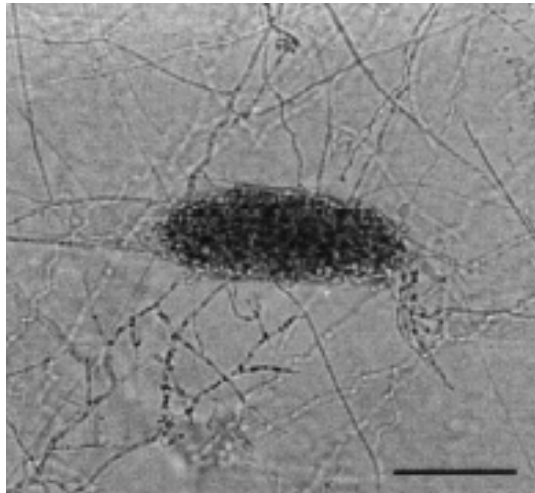


Figura 1 - Fungo em atividade ovicida mostrando suas hifas aderidas ao ovo de um nematóide (LOPEZ-LLORCA et al., 2002).

Nos fungos endoparasitas, a infecção inicia-se através da ingestão do esporo ou adesão deste à cutícula do nematóide (figura 2). Em seguida, o esporo germina, penetra na cavidade corporal onde produz o talo infeccioso que cresce e absorve o conteúdo do nematóide. Na maioria das espécies o desenvolvimento do fungo ocorre no interior do nematóide e somente hifas

reprodutivas (tubos de evacuação e conidióforos) saem através da parede corporal (BARRON, 1977).

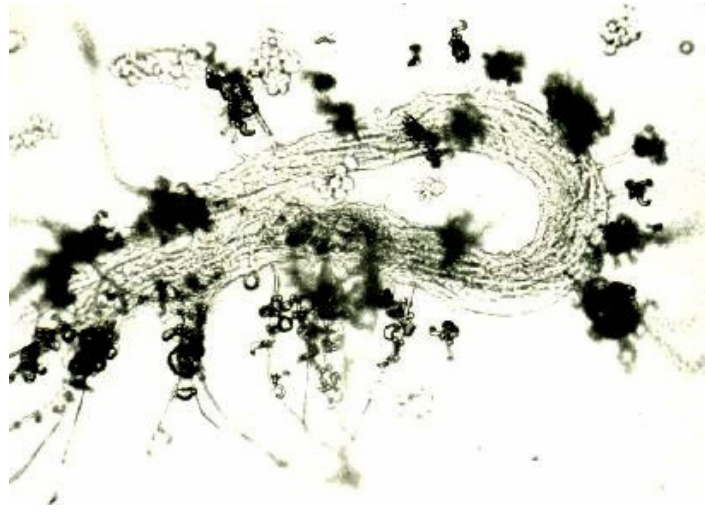


Figura 2 - Fungo endoparasita *Harposporium anguillulae* desenvolvendo-se no nematóide *Panagrellus spp.* Este fungo produz esporos em forma de meia lua, que quando ingeridos pelo hospedeiro germinam no esôfago (fotografado por SANTOS, C.P. e SAUMELL, C.A.).

Os fungos predadores produzem um extenso micélio no meio ambiente. Ao longo da hifa são formadas armadilhas que capturam os nematóides mecanicamente ou por adesão (Figura 3). Essas armadilhas são divididas nas seguintes categorias: hifas adesivas não modificadas ou não diferenciadas, hifas anastomosadas formando redes adesivas tridimensionais, ramificações adesivas que algumas vezes formam redes simples e na maioria das vezes bidimensionais, nódulos adesivos, anéis constritores e anéis não constritores (BARRON, 1977).

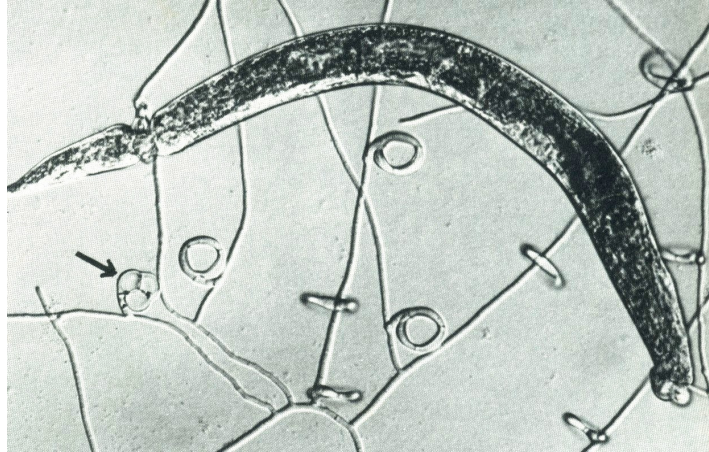


Figura 3- Anéis constritores tridimensionais (seta) do fungo *Arthrobotrys* capturando uma larva infectante de *Panagrellus spp* (BARRON, 1977).

Assim, vários tipos de armadilhas podem ser desenvolvidos pelos fungos. Nos que utilizam armadilhas aderentes, a substância adesiva pode cobrir toda a hifa ou apenas as estruturas especializadas e/ou as redes. As estruturas de captura não aderentes são os anéis constritores e os não constritores. Os anéis constritores têm ação ativa, geralmente têm três células e quando o nematóide penetra no anel as células se expandem promovendo estrangulamento. Os anéis não constritores são estruturas passivas. Os nematóides ao penetrarem nesses anéis, se enrolam e ficam aprisionados (PADILHA, 1996).

A formação de armadilhas, ao longo de suas hifas, ocorre em resposta à presença do nematóide ou seus esporos, de compostos biológicos ou a condições de estresse fisiológico, como na escassez de nutrientes e água (BALAN e GERBER, 1972).

## 2.2 - Uso de fungos para o controle de nematóides gastrintestinais

O conceito de microfungos como agentes no controle biológico de nematóides não é recente. Linford et al. no Hawai, no final da década de 30, usaram estes fungos como agentes no controle para nematóides de abacaxi (CASWELL et al., 1989). A partir deste experimento, um grupo de cientistas do Instituto Pauster na França, no final da década de 30 e início da de 40, apresentou experimentos pioneiros utilizando fungos nematófagos, tanto em testes *in vitro* como em testes com um pequeno número de animais (PELOILLE, 1991).

As informações são basicamente restritas aos fungos predadores e endoparasitas, sendo que, isolados do gênero *Arthrobotrys* e *Duddingtonia*, os quais pertencem ao grupo de predadores, são predominantemente os mais estudados.

De 1985 até 1990, uma série de testes foi apresentada por um grupo de pesquisadores dinamarqueses, testando o efeito do fungo *A. oligospora* contra nematóides em algumas espécies de ruminantes. 250 e 2500 conídios foram misturados em 1 grama de fezes e mostraram números significativamente menores (70 e 90% de redução, respectivamente) no desenvolvimento de larvas de *C. oncophora* em cultivos de fezes (GRØNVOLD et al., 1985).

No Brasil, as pesquisas tiveram início na década de 1990 (SANTOS, 2005). Araújo et al. (1992, 1993) demonstraram que *Monacrosporium ellipsosporum* e *Arthrobotrys* spp foram eficazes no controle de larvas de *Haemonchus placei* em condições laboratoriais, e que havia variações na capacidade predatória de diferentes isolados dentro da mesma espécie de *Arthrobotrys*. Charles et al. (1993a; 1993b) demonstraram que a eficácia de um isolado de *A. oligospora* em reduzir larvas infectantes de nematóides Cyathostomíneos era dependente da dose de esporo contida nas fezes, e que o mesmo isolado, quando comparado a *D. flagrans*, apreendia número maior de larvas infectantes de nematóides trichostrongilídeos em menor tempo e com menor número de esporos.

Assis et al. (2003) demonstraram que o uso dos fungos nematófagos *Manacrosporium sinense* e *Manacrosporium appendiculatum* no controle



biológico de nematóides de equinos reduziu a contaminação das pastagens, agindo diretamente nas larvas presentes no meio ambiente.

Estudos têm focado o uso de fungos que sobrevivem à passagem pelo trato digestório de animais e agem sobre ovos e larvas no meio ambiente (LARSEN, 2000).

Até o final da década de 80 e início da de 90, estudos sobre controle biológico de nematóides parasitas de ruminantes usando fungos nematófagos focavam o fungo *A. oligospora* (GRØNVOLD et al., 1989; HASHMI e CONNAN, 1989). Entretanto, tem sido demonstrado que o fungo *D. flagrans* é mais apropriado a sobreviver à passagem através do trato gastrointestinal de ruminantes e preda as larvas que estão nas fezes devido à produção de numerosos clamidósporos (PELOILLE, 1991; LARSEN et al., 1992a; GRØNVOLD et al., 1993; LARSEN et al., 1998).

Mota et al. (2003) demonstraram que fungos nematófagos propagam-se nas fezes e produzem estruturas especializadas (armadilhas) com a finalidade de capturar e aprisionar os nematóides. Após, o fungo penetra no interior da presa, matando-a por destruição dos seus órgãos internos. O parasitismo clínico não ocorre quando fungos nematófagos são administrados, devido à redução no número de larvas fornecidas aos animais, suficiente para desenvolver uma imunidade adquirida (ARAÚJO, 1996).

Esporos de outros fungos candidatos ao controle biológico demonstraram ser mais sensíveis ao estresse do trato gastrointestinal que os clamidósporos de *D. flagrans* quando são expostos a condições que simulam a passagem através do trato digestório dos ruminantes (LARSEN et al., 1991; WALLER et al., 1994) ou são diretamente consumidos por animais (LARSEN et al., 1992b; FAEDO et al., 1997; WALLER et al., 1994).

A capacidade da espécie *D. flagrans* de produzir armadilhas e clamidósporos, assim como a sua taxa de crescimento, em presença de L<sub>3</sub> de *O. ostertagi* indica esta espécie como promissor agente no controle biológico (GRØNVOLD et al., 1996).

Paraud et al. (2005) demonstraram que larvas de primeiro estágio de *Muellerius capillaris*, um pequeno nematóide pulmonar, foram incapazes de induzir a formação de armadilhas pelo fungo *D. flagrans*, em condições *in vitro*.

Já o uso de larvas de terceiro estágio induziu a formação de 44 a 135 armadilhas/cm<sup>2</sup>.

Em caprinos, estudos já têm demonstrado que a administração de esporos pode reduzir o número de larvas dos principais nematóides gastrintestinais (PARAUD et al., 2005).

Peña et al. (2001) apresentaram estudos sobre a dose mínima ideal para a administração fúngica, no entanto, fatores como o volume de alimento administrado e as condições de criação podem concorrer para o insucesso do uso de doses previamente determinadas. Doses diárias de um milhão ou mais de clamidósporos por quilo de peso vivo têm sido usadas em testes de campo, mas dados mais recentes mostram que o nível da dose pode ser menor para pequenos ruminantes (PEÑA et al., 2002).

Estudos demonstraram que a administração diária de 10<sup>6</sup> esporos/Kg de peso vivo em carneiros resultou em um ganho de peso em animais jovens. Waller et al. (2004) observaram uma melhora no desempenho de ovinos que receberam uma dose de 2.5 x 10<sup>5</sup> esporos/Kg de peso vivo. Dimander et al. (2003) verificaram um aumento no ganho de peso de bovinos alimentados com uma dose de 5 x 10<sup>5</sup> ou 10<sup>6</sup> esporos/ Kg de peso vivo.

Knox e Faedo (2001) observaram que um grupo de ovinos recebendo suplemento alimentar contendo clamidósporos de *D. flagrans* apresentava menores quantidades de ovos e maior ganho de peso quando comparado com animais não tratados. A redução de L<sub>3</sub> de *O. ostertagi* no bolo fecal de bezerros foi obtida alimentando-se animais com grãos de cevada com adição de *D. flagrans*, porém não obteve sucesso com a administração de grãos contendo *A. oligospora* (GRØNVOLD et al., 1993, WOLSTRUP et al., 1994).

Faessler et al. (2007) mostraram uma redução no número de larvas de nematóides gastrintestinais de bovinos quando são tratados com o fungo *D. flagrans*. Essa redução variou de 77 a 95% quando comparada com um grupo de animais que não receberam esse tratamento.

Paraud et al. (2005) observaram uma redução no número de larvas de *H. contortus* após dois dias de aplicação de clamidósporos do fungo *D. flagrans*.

Seus resultados mostraram que o uso de *D. flagrans* é alta e rapidamente eficiente no controle de nematóides gastrintestinais em condições experimentais.

Estudos com ovinos e caprinos em piquetes têm demonstrado claramente que *D. flagrans* é capaz de reduzir o número de larvas infectantes que emergem das amostras fecais em uma taxa maior que 90% (LARSEN et al., 1998; WALLER et al., 2001; PEÑA et al., 2002; CHANDRAWATHANI et al., 2002, 2003).

Maingi et al. (2006) observaram que ovinos tratados com o fungo *D. flagrans* necessitaram de um menor tratamento anti-helmíntico do que aqueles não tratados com o fungo.

Resultados de estudos confirmaram a habilidade de *D. flagrans*, quando administrado como um suplemento diário a caprinos, em reduzir o número de nematóides gastrintestinais. Estudos demonstram que a aplicação de  $10^6$  esporos de *D. flagrans* por quilo de peso vivo fornece um ganho de peso em caprinos (PARAUD et al., 2007).

Estudos mostraram que as espécies de nematóides gastrintestinais são diferentemente afetadas por um tratamento com o fungo *D. flagrans*. Os resultados obtidos foram que parasitas presentes no abomaso de ovinos foram reduzidos em 66%, enquanto que vermes intestinais não foram afetados de forma significativa (GÓMEZ-RICÓN et al., 2006).

Faedo et al. (2002) demonstraram que *D. flagrans* não afeta a população de nematóides não parasitas que vivem no solo. Além disso, ao ser administrado em diferentes concentrações a ovinos, este fungo reduziu a população de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* nas coproculturas (PEÑA et al., 2002).

### 2.3 – Aspectos gerais de *D. flagrans*

O gênero *Duddingtonia* é caracterizado por espécies que produzem vários conídios na extremidade dos conidióforos (VAN OORSCHOT, 1985). Os conídios apresentam um formato variando entre elíptico e ovóide apresentando um septo mediano. *D. flagrans* é a espécie mais estudada no controle das helmintoses gastrintestinais de animais domésticos. Predam nematóides por meio de hifas adesivas. Produzem conídios com morfologia de 25-50 µm de comprimento por 10-15 µm de largura (COOKE e GODFREI, 1964). Produzem grande quantidade de clamidósporos em matéria seca. A maioria dos isolados mantidos em laboratório forma isolados em fezes de animais e matéria orgânica presente no solo (MOTA et al., 2003).

*Duddingtonia flagrans* produz clamidósporos no micélio (Figura 4), os quais são esporos assexuais que possuem uma parede espessa e resistente que atua como esporos resistentes e latentes quando expostos a condições adversas de temperatura, pH, ou ausência de nutrientes ou água, etc (HERRERA e ULLOA, 1990). Podem dar origem a hifas, conidióforos e conídios (BARRON, 1977). Estas estruturas são capazes de sobreviver à passagem através do trato digestivo dos ruminantes melhor que os conídios de paredes delgadas (WALLER e LARSEN, 1993).

Este parece ser o único fungo capaz de reduzir consistente e significativamente o número de larvas infectantes de trichostrongilídeos em fezes de animais alimentados com esporos fúngicos (LARSEN, 1999).



Figura 4 – Fungo predador *Duddingtonia flagrans* (fotografado por SANTOS CP).

### 3 – MATERIAL E MÉTODOS

**Experimento I – Comparar a capacidade de sobrevivência e eficácia de clamidósporos e micélio do fungo *D. flagrans* após passagem pelo trato digestivo de ovinos.**

#### **- Delineamento experimental**

O isolado do fungo *D. flagrans* (isolado 768) foi repicado em meio sólido para produção de clamidósporos e em meio líquido para produção de micélio. Posteriormente, o número de clamidósporos obtido por grama do substrato foi quantificado através de câmara de Neubauer e uma suspensão na dose de 500.000 clamidósporos por kg de peso vivo foi administrado via oral durante três dias a três ovinos. Volume semelhante de suspensão contendo micélio foi administrado a três ovinos enquanto a três outros não foram administrados fungo. As fezes destes animais foram colhidas 24, 48 e 72 horas antes da administração do fungo; durante a administração do fungo e 24, 48 e 72 horas após a administração do fungo para OPG e coprocultura.

#### **– Animais**

Foram usados nove animais da raça Santa Inês machos. Estes animais foram previamente selecionados, baseando-se no seu peso e valor de OPG.

#### **– Isolado de *Duddingtonia flagrans***

Foi utilizado o isolado brasileiro CG768 de *D. flagrans* obtido por Santos et al. (1998) no estado do Ceará e depositado no Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia Cenargen – Embrapa. O fungo foi mantido inicialmente em meio à base de ágar-água durante dois dias. Posteriormente, nematóides de vida livre (*Panagrellus sp*) foram adicionados ao meio para estimular a produção de armadilhas durante três dias. Em seguida, conídios deste fungo foram transferidos para o meio ágar-Sabouraud,

onde cresceram por 10 dias. Todo o crescimento do fungo ocorreu à temperatura ambiente.

### – Produção do fungo

O cereal milho foi utilizado como substrato para produção do fungo. O meio foi adicionado em garrafas Roux e autoclavados. Quatro pedaços de 1cm<sup>2</sup> cada do meio ágar-Sabouraud contendo o fungo foram inoculados por garrafa, e o material foi cultivado a uma temperatura de 25°C na ausência de luz por 21 dias (Figura 5). Posteriormente, o conteúdo de cada garrafa foi macerado e adicionado 250 ml de água destilada. Este foi previamente filtrado em peneira e posteriormente foi adicionado um tecido de nylon de 100 micras. Uma alíquota do filtrado foi analisada para determinar o número de clamidósporos através da câmara de Newbauer.



Figura 5 - *D. flagrans* crescendo em meio à base de cereal milho em garrafas Roux.

Para a produção do micélio, 3 pedaços de 1cm<sup>2</sup> do ágar-Sabouraud contendo o fungo foram inoculados em Erlenmeyer de 500 mL contendo 100 mL do meio caldo Sabouraud e incubado a 30° C em movimentos constantes (90 rpm) por 48h. Após a incubação uma alíquota do líquido resultante desse processo foi analisada em microscopia óptica através da câmara de Newbauer para confirmação de crescimento apenas do micélio.

### **– Contagem de ovos**

Amostras fecais foram coletadas diretamente da ampola retal de cada animal nos diferentes tratamentos durante o período experimental. Nestas amostras foram determinadas as contagens de ovos por grama de fezes (OPG), segundo a técnica modificada de Gordon e Whitlock (1939), onde 2g de fezes são misturados com 58mL de solução salina hipersaturada. Este conteúdo é filtrado e a suspensão fecal é homogeneizada com uma pipeta. Uma amostra é retirada para a contagem dos ovos após sua flutuação através da câmara de McMaster. O total de ovos encontrados nas duas áreas da câmara é multiplicado por 100, sendo este o resultado do OPG.

### **– Cultivos de fezes**

4g de fezes foram pesados em um copo plástico descartável com capacidade para 50 ml, previamente identificado. Os copos plásticos contendo as amostras de cada animal foram incubados em caixas plásticas contendo uma fina camada de água destilada ao fundo e coberta com filme plástico para prevenir a perda de umidade durante sete dias à temperatura de 25 – 29 °C. Após a incubação, cada copo plástico foi preenchido com água destilada, sobre este foi colocada uma placa de Petri descartável, seguindo-se a inversão do conjunto copo-placa. A cada placa foram adicionados 10 ml de água destilada e após 4 horas as larvas infectantes que migraram do copo para a placa foram pipetadas. Estas foram acondicionadas em garrafas de cultivo de 50 ml e armazenadas sob refrigeração para posterior quantificação.

### **- Plaqueamento das fezes**

As fezes provenientes de animais do mesmo grupo foram homogeneizadas. Uma parcela de dois gramas foi depositada individualmente de forma linear de dois extremos a outros de uma placa de Petri com ágar-água (2%), formando uma cruz. Nematóides de vida livre (*Panagrellus* sp.) foram adicionados às placas como isca para estimular o crescimento dos fungos nematófagos. As placas foram fechadas com filme plástico e incubadas



à temperatura ambiente (20-25°C) por três semanas, sendo observadas semanalmente ao microscópio óptico para verificar a presença do fungo.

### – Análise estatística

Para a análise da ocorrência da larva foi utilizado o método da amostragem simples ao acaso, ao nível de 5 % de probabilidade, em três condições diferentes: controle – sem o fungo, condição 1 contendo a presença de micélio e condição 2 contendo a presença de clamidósporos.

$\rho$  = proporção na amostra.

$$\rho = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Em que:

$X_i = 0$ , quando a larva não ocorre.

1, quando a larva ocorre.

$n$  = número total de indivíduos na amostra.

$P$  = proporção na população infinita

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n x_i)^2}{n}}{(n-1)}$$

Nas diversas situações possíveis, a amostra foi dimensionada considerando um desvio de 10 % em torno da proporção da amostra, para uma população infinita. A comparação foi feita por meio de intervalo de confiança da proporção na população, considerando a interposição ou não dos intervalos, em que:

$$p - t\alpha \frac{(n-1) s}{\sqrt{n}} \leq P \leq p + t\alpha \frac{(n-1) s}{\sqrt{n}}$$

**Experimento II - Verificar efeito da suplementação diária de uma formulação contendo um isolado brasileiro de *D. flagrans* na população de nematóides na região de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro.**

#### **– Delineamento Experimental**

Vinte ovinos foram introduzidos em dois piquetes contendo pastagem nativa contaminada naturalmente com nematóides gastrintestinais de ruminantes. Dez animais receberam diariamente uma suplementação alimentar contendo o fungo *D. flagrans* na dose de 500.000 clamidósporos por quilograma de peso vivo durante cinco meses consecutivos. Os outros dez não receberam este suplemento e serviram de controle. Análises de amostras fecais, cultivos fecais, pesagem dos animais e larvas na vegetação foram realizadas durante o período experimental e comparadas entre o grupo tratado e controle para verificar o impacto do fungo na população de nematóides gastrintestinais.

#### **– Isolado de *Duddingtonia flagrans***

Foi utilizado o isolado brasileiro CG768 de *D. flagrans* obtido por Santos *et al.* (1998). O cultivo do fungo ocorreu nas mesmas condições que o experimento I.

#### **– Produção do fungo**

Para produção de clamidósporos do fungo *D. flagrans*, a metodologia utilizada foi à mesma observada no experimento I.

### **– Contagem de ovos**

Amostras fecais foram coletadas diretamente da ampola retal de cada animal nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental. Nestas amostras foram determinadas as contagens de ovos por grama de fezes (OPG), segundo a técnica modificada de Gordon e Whitlock (1939).

### **– Cultivos fecais**

Foram realizadas coproculturas a cada 15 dias nos dois grupos. Para esse método, foi utilizado o mesmo procedimento observado no experimento I.

### **– Ganho de peso**

Paralelamente a coleta de fezes, cada animal foi pesado através de uma balança fixa para verificar o ganho de peso.

### **- Grau de contaminação da pastagem**

Ao final do experimento amostras da vegetação foram colhidas em zigue-zague em toda a extensão dos piquetes. Estas foram divididas em amostras de 100g e adicionadas a baldes plásticos de 20 litros que receberam 0,5 ml de detergente e água até o bordo. O material ficou sedimentando durante 24 horas. Então, o sobrenadante foi descartado de modo a permanecer um litro no balde. Este litro se manteve sedimentando em proveta por quatro horas. Após este período o sedimento restante foi colhido e conservado com formol 10% para posterior quantificação do número de larvas.

Os 100g de pastagem correspondente foram colocados em uma estufa de secagem a 50°C, por 24 horas para se obter a matéria seca. Os dados obtidos foram transformados em número de larvas por kg de matéria seca.

**- Análise estatística**

Para a análise da ocorrência de larva foi utilizado o método da amostragem simples ao acaso, ao nível de 5 % de probabilidade, conforme o experimento I.

## 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### - Experimento I

O percentual médio de larvas infectantes obtidas em cada animal dentro das três condições foi estatisticamente diferente pelo menos em alguma situação, a exceção dos animais 1 e 3 na condição contendo micélio. Apenas nos animais que receberam o suplemento contendo clamidósporos houve uma redução significativa do percentual de larvas durante os três dias seguintes a administração. Esse percentual foi respectivamente de 30%, 63% e 30% (figura 6).

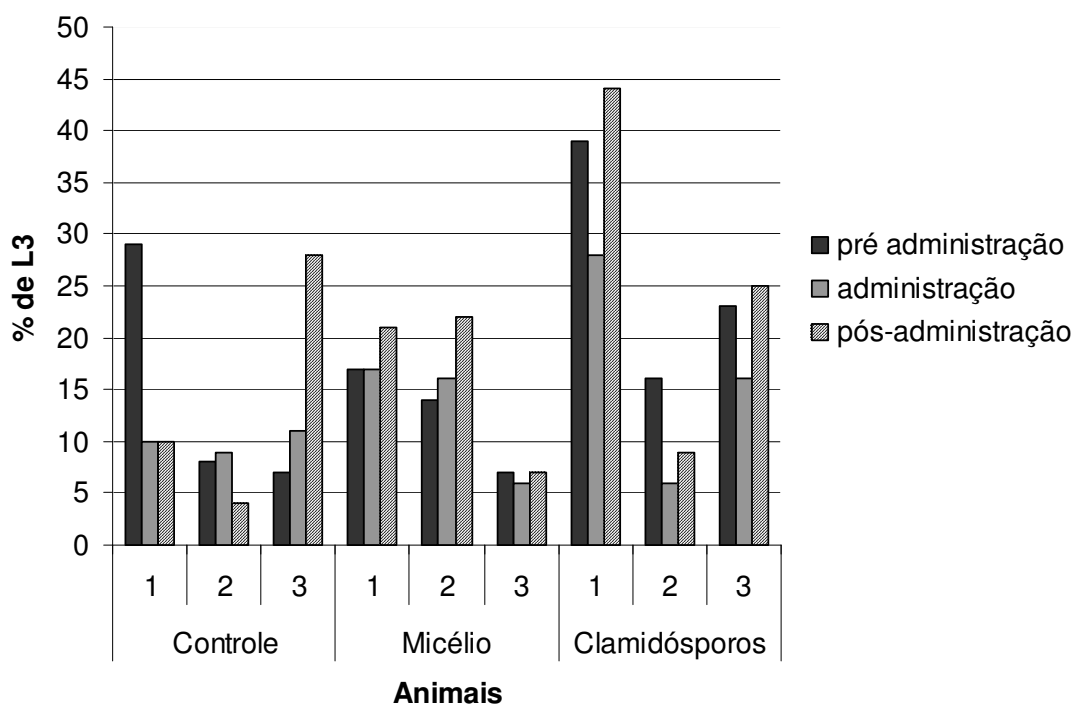


Figura 6 – Percentual de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de ovinos em cultivos fecais oriundos de animais tratados e não tratados com o fungo *D. flagrans*.

De acordo com este estudo, o fungo *D. flagrans* tem uma ação positiva no controle da verminose de ovinos apenas quando seus clamidósporos são administrados. Segundo Sanyal (2004), este fungo produz abundantes clamidósporos, esporos de paredes espessas, que asseguram maior

sobrevivência durante a passagem através do trato digestório de ruminantes quando administrados oralmente.

O declínio da redução larval entre 1 e 2 dias após cessado a administração do fungo a ovinos também foi observado por Pena et al. (2002) sendo que com 4 a 5 dias não foi detectado nenhuma atividade predatória. De forma semelhante, a administração a caprinos demonstrou atividade somente até o segundo dia após ter interrompido a administração do fungo *D. flagrans* a ovinos. Estas variantes podem ser devido a fatores como espécie, idade, raça, sexo, tipo de alimentação e inoculo e devem ser levados em consideração pelo fato de influenciarem diretamente sobre a velocidade na passagem pelo trato gastrointestinal e conseqüentemente sobre substâncias que são ingeridas.

Até o momento, não foram realizados estudos comparando a eficácia do uso de micélio e clamidósporos de *D. flagrans*. O resultado desse trabalho mostrou que o uso de clamidósporo pode ser um método viável para o controle de nematóides gastrintestinais de ovinos. Além disso, é factível que seja recomendado a aplicação diária do fungo uma vez que a atividade predatória diminui quando cessa a administração do fungo.

Durante a observação das placas verificou-se que apenas na condição contendo clamidósporos houve a presença do fungo *D. flagrans*. Os resultados obtidos demonstram que apenas os clamidósporos são capazes de atravessar o trato gastrintestinal dos animais. Essa característica possibilita a ação de *D. flagrans* sobre as larvas presentes na massa fecal.

## **- Experimento II**

O percentual médio de larvas infectantes obtidas das coproculturas nos meses de agosto, setembro e outubro nos animais tratados com fungos foi estatisticamente menor que do grupo controle (Figura 7).

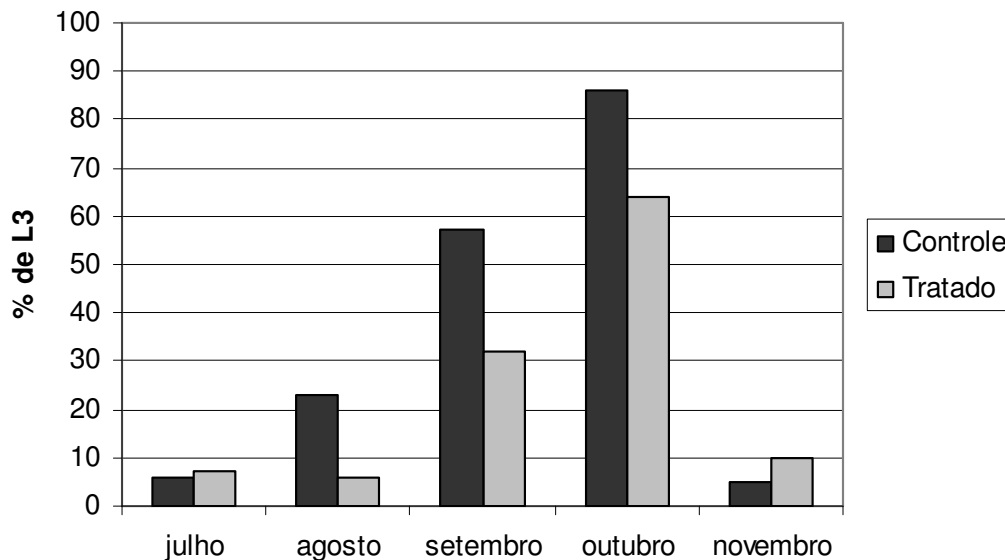


Figura 7 – Percentual de larvas infectantes das coproculturas nos grupos tratado e controle.

Esse resultado mostra a vantagem do uso de *D. flagrans* como complemento ao controle parasitário de ovinos. Trabalhos anteriores já mostraram a eficácia de fungos nematófagos ao serem administrados em diferentes animais de produção. Porém, esse é o primeiro experimento na região Norte Fluminense em que o fungo *D. flagrans* é usado como suplemento alimentar diário durante um longo período de tempo.

*Duddingtonia flagrans* tem a capacidade de predação, destruir e se alimentar de nematóides no solo. A administração oral destes microrganismos a animais parece ser a maneira mais adequada de utilizá-los. Depois de passarem através do trato gastrointestinal, seus clamidósporos são eliminados com as fezes e, assim, um contato entre o fungo e as larvas recentemente expelidas é conseguido (LARSEN et al., 1992a).

Dessa forma, *D. flagrans* age diminuindo o número de larvas infectantes na pastagem, o que acarreta uma redução de animais infectados por nematóides gastrintestinais.

Não foi observada diferença significativa em relação ao peso dos animais dos diferentes grupos (Figura 8).

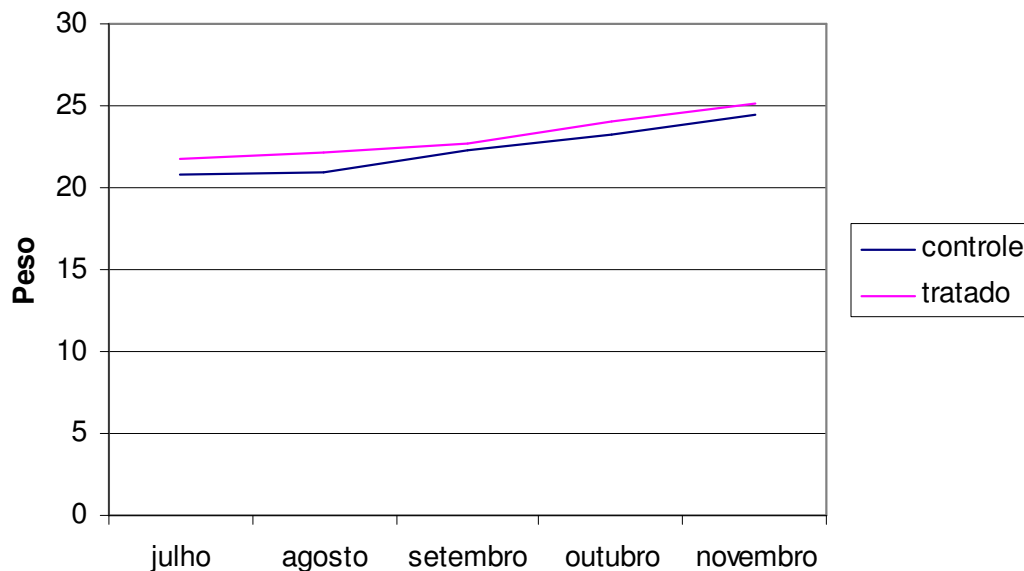


Figura 8 – Variação da média de peso dos ovinos durante o período experimental.

Estudos anteriores mostram um aumento de peso de animais tratados com fungos nematófagos devido ao controle da verminose. Nesse trabalho, porém, não houve diferença significativa no ganho de peso dos grupos.

O número de larvas infectantes obtidas na vegetação dos grupos controle e tratado foram respectivamente 1787 L<sub>3</sub>/Kg/MS e 1242 L<sub>3</sub>/Kg/MS. Assim, houve uma redução no número de larvas presentes na vegetação obtida de piquetes onde se encontravam os animais tratados com o fungo. Esse é mais um dado que comprova a eficácia do uso desse fungo no controle da verminose de ovinos.

O resultado positivo de *D. flagrans*, juntamente com outros fungos nematófagos possibilita seu uso como adjuvante aos tratamentos químicos, diminuindo assim o número de reações adversas existentes no controle de verminose atual. Larsen (2000) estimou que sob um regime padrão de três anti-helmínticos por ano, mortes de cordeiros por parasitismo poderiam ser reduzidas em 73-87% por incorporação de fungos como agente de biocontrole.

Mais estudos devem ser realizados para avaliar os efeitos do fungo *D. flagrans* sobre os nematóides gastrintestinais de ovinos.



## 5 – CONCLUSÃO

- Clamidósporos de *D. flagrans* sobrevivem à passagem pelo tubo digestório de ovinos mantendo sua atividade nematófaga. Por outro lado, o micélio não apresentou atividade nematófaga.
- Animais tratados com o fungo *D. flgrans* não apresentaram ganho de peso.
- Houve uma redução no número de larvas presentes na vegetação onde se encontravam os animais tratados com o fungo.
- O uso de fungos nematófagos não significa a eliminação total de outros métodos de controle de nematodioses, principalmente o uso de agentes químicos.

## 6 - REFERÊNCIAS

ARAÚJO JV, SANTOS MA, FERRAZ S, MAIA AS, MAGALHÃES ACM. Controle de larvas infectantes de *Haemonchus placei* por fungos predadores da espécie *Monacrosporium ellypsosporum* em condições de laboratório. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 44, p. 521-526, 1992.

ARAÚJO J.V., SANTOS M.A., FERRAZ S., MAIA A.S. Antagonistic effect of predacious *Arthrobotrys* fungi on infective *Haemonchus placei* larvae. **Journal of Helminthology**. v. 67, p. 136-138, 1993.

ARAÚJO J.V. Interação entre larvas infectantes de *Cooperia punctata* e fungos predadores do gênero *Arthrobotrys*, caracterização de isolados de *Arthrobotrys* e seu uso no controle biológico de nematóides parasitos gastrintestinais de bovinos. **Ph. D Thesis, ICB, UFMG, Belo Horizonte, Brazil**, 1996.

ASSIS R.C.L.; ARAÚJO, J.V. Predatory viability of isolates fungi of two species of the genus *Monacrosporium* on infective cyathostome larvae after passage through the gastrointestinal tract of equines in sodium alginate formulation. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 12, n. 3, p. 109-113, 2003.

BALAN, J., GERBER, N. Attraction and killing of the nematode *Panagrellus redivivus* by the predacious fungus *Arthrobotrys dactyloides*. **Nematology**. v. 18, p. 163-173, 1972.

BARRON GL. The nematode-destroying fungi. **In: Topics in Mycobiology. Canadian Biological Publications**. v. 1, p. 140, 1977.

CAMPOS R. R., HERRERA R. D. & QUIROZ R. H. *In vitro* diagnosis of resistance of *Haemonchus contortus* to benzimidazole in three flocks of Tabasco or Pelibuey breed sheep. **Veterinaria Mexico**. v. 23, p. 51-56, 1992.

CASWELL EP, APT WJ. Pineapple nematode research in Hawaii: past, present, and future. **Journal of Nematology**. v. 21, p. 147-157, 1998.

CHANDRAWATHANI P, JAMNAH O, WALLER PJ, HÖGLUND J, LARSEN M, ZAHARI WM. Nematophagous fungi as a biological control agent for nematode parasites of small ruminants in Malaysia: a special emphasis on *Duddingtonia flagrans*. **Veterinary Research**. v. 33, p. 685-696, 2002.

CHARLES T. P. Verminose dos bovinos de leite. In: **Charles TP; Furlong J. Doenças parasitárias dos bovinos de leite. Coronel Pacheco: Embrapa – CNPGL**. p. 55-110, 1992.

CHARLES, T.P.; SANTOS, C.de P.; ALVIM, G.P. Atividade Predatória de duas Espécies de Fungos Nematófagos nos Estágios de Vida Livre de Nematódeos Trichostrongilídeos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, Suplemento 1, p. 46. 1993a.

CHARLES, T.P.; RODRIGUES, M. de A.; SANTOS, C. de P. Redução do número de larvas de *Cyathostominae* em fezes de eqüinos tratadas com conídios de *Arthrobotrys oligospora*. In: CONGRESSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DA LÍNGUA PORTUGUESA, 6., 1993, Salvador: Comitê Permanente dos Congressos Internacionais de Medicina Veterinária em Língua Portuguesa, **Anais...**, p. 333-334, 1993b.

COOKE RC & GODFREY BES. A key of nematode-destroying fungi. **Trans. Brit. Mycology Society** v. 47, p. 61-74, 1964.

CRUZ, D. G.; CORDEIRO, R. C; LOPES, A. J. O.; ROCHA, L. V.; SANTOS, C. P. Evaluation of the survival and nematophagous efficacy of *Duddingtonia flagrans* isolates and *Arthrobotrys* spp. after passage through the ovine digestive tract In: **XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e I Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses**, Ouro Preto, MG – 20 a 24 de setembro de 2004, Ouro Preto. p. 258.

FAEDO, M., LARSEN, M. & WALLER, P. J. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: comparison between Australian isolates of *Arthrobotrys* spp. and *Duddingtonia flagrans*. **Veterinary Parasitology**. v. 72, p. 149-155, 1997.

FAEDO M, LARSEN M, DIMANDER SO, YEATES GW, HOGLUND J, WALLER PJ. Growth of the fungus *Duddingtonia flagrans* in soil surrounding feces deposited by cattle or sheep fed the fungus to control nematode parasites. **Biological Control**, v. 68, p. 64-70, 2002.

FAESSLER H., TORGERSON P.R., HERTZBERG H. Failure of *Duddingtonia flagrans* to reduce gastrointestinal nematode infections in dairy ewes. **Veterinary Parasitology**. v.147, p. 96-102, 2007.

GÓMEZ-RICÓN C., URIARTE J., VALDERRÁBANO J. Efficiency of *Duddingtonia flagrans* against Trichostrongyle infections of sheep on mountain pastures. **Veterinary Parasitology**. v. 141, p. 84-90, 2006.

GORDON N.M. e WITHLOCK H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Common wealth Cientific and Industrial Research Organization**, v. 12, p. 50-52, 1939.

GRØNVOLD J, KORSHOLM H, WOLSTRUP J, NANSEN P & HENRIKSEN SA. Laboratory experiments to evaluate the ability of *Arthrobotrys oligospora* to destroy infective larvae of *Cooperia* species, and to investigate the effect of physical factors on the growth of the fungus. **Journal of Helminthology**. v.59, p. 119-126, 1985.

GRØNVOLD J, HENRIKSEN SA, NANSEN P, WOLSTRUP J, THYLIN J. Attempts to control infection with *Ostertagia ostertagi* (Triconstrongylidae) in grazing calves by adding mycellium of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* (Hyphomycetales) to cow pats. **Journal of Helminthology**. v. 63, p. 126-155, 1989.

GRØNVOLD J., Wolstrup J., Larsen M., Henriksen S. A., Nansen P. Biological control of *Ostertagia ostertagi* by feeding selected nematode-trapping fungi to calves. **Journal of Helminthology**, v. 67, p. 31–36, 1993.

GRØNVOLD J, HENRIKSEN SA, LARSEN M, NANSEN P, WOLSTRUP J. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminthes of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**. v. 64, p. 47-64, 1996.

HASHMI HA, CONNAN RM. Biological control of ruminant Tricostromyids by *Arthrobotrys oligospora*, a predacious fungus. **Parasitology Today**. v. 5, p. 28-30, 1989.

HERRERA T. e ULLOA M. El reino de los hongos. **Micología básica y aplicada**. Editado por el Instituto de Biología, UNAM y Fondo de Cultura Económica. México, p. 550, 1990.

KNOX MR, FAEDO M. Biological control of field infections of nematode parasites of young sheep with *Duddingtonia flagrans* and effects of spore intake on efficacy. **Veterinary Parasitology**. v. 101, p. 155-160, 2001.

LARSEN M & NANSEN P. The ability of the fungus *Pleurotus pulmonarius* to immobilize preparasitic nematode larvae. **Research in Veterinary Science**. v. 51, p. 246-249, 1991.

LARSEN, M., NANSEN, P., GRØNVOLD, J., WOLSTRUP, J., HENRIKSEN, S.A. In vivo passage of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes in ruminants. **Journal of Helminthology**. v. 66, p. 137–141, 1992a.

LARSEN, M., WOLSTRUP, J., HENRIKSEN, S.A., GRØNVOLD, J., NANSEN, P., 1992. In vivo passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasite nematodes. **Journal of Helminthology**. v. 66, p. 137–141, 1992b.

LARSEN M., NANSEN P., GRØNVOLD J., WOLSTRUP J., HENRIKSEN S. A. Biological control of gastro-intestinal nematodes – facts, future, or fiction? **Veterinary Parasitology**. v. 72, p. 479-492, 1997.

LARSEN M., FAEDO M., WALLER P.J., HENNESSY D.R., 1998. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: studies with *Duddingtonia flagrans*. **Veterinary Parasitology**. v. 76, p. 121–128, 1998.

LARSEN M. Biological control of helminthes. **International Journal for Parasitology**. v. 29, p. 139-146, 1999.

LARSEN M. Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious micro fungi. **Parasitology**. v. 120, p. 121-131, 2000.

MAINGI N., KRECEK R.C., VAN BILJON N. Control of gastrointestinal nematodes in goats on pastures in South Africa using nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans* and selective anthelmintic treatments. **Veterinary Parasitology**. v. 138, p. 328-336, 2006.

MOTA M. A., CAMPOS A. K., ARAÚJO J. V. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisas veterinárias brasileira**. v.23, p. 93-100, 2003.

PADILHA T. Atividade de fungos nematófagos nos estágios pré-parasitários de nematódeos trichostrongilídeos. **EMBRAPA, CNPGL, Coronel Pacheco, Brasil**. v. 26, n.2, p. 333-341, 1996.

PARAUD C., HOSTE H., LEFRILEUX Y., POMMARET A., PAOLINI V., PORS I., CHARTIER C. Administration of *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to goats to control gastro-intestinal nematodes: dose trials. **Veterinary Research**. v. 36, p. 157-166, 2005.

PARAUD C., PORS I., CHARTIER C. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to control nematode parasites of first-season grazing goats in France. **Veterinary Research Communications**. v. 31, p. 305-315, 2007.

PEIOLLE M. Selection of nematode-trapping fungi for use in biological control. In: Kerry BR, Crump DH (Eds.). **Methods for Standing Nematophagous Fungi. IOBC / WPRS Bull, OILB / SROP XIV.** v.2, p. 13-17, 1991.

PEÑA M. T., MILLER J. E., FONTENOT M. E., GILLESPIE A., LARSEN M. Evaluation of *Duddingtonia flagrans* in reducing infective larvae of *Haemonchus contortus* in feces of sheep. **Veterinary Parasitology.** v. 103, p. 259-265, 2002.

PERES, M. A. Dinâmica populacional de nematóides gastrintestinais em ovinos criados no município de Campos dos Goytacazes - Norte Fluminense. **Monografia de Conclusão de curso.** 2006. 59 f.

SANTOS C de P, SAUMELL CA, PADILHA T & LARSEN M. Nematophagous fungi in decomposing ruminant and equine feces in Brazil. In: **Second International Conference Novel Approaches to the Control of Helminths Parasites of Livestock 2, Baton Rouge-Louisiana Abstracts,** p. 59, 1998.

SANTOS, C. P.; CRUZ, D. G; BRAGA, S. R.; LOPES, A. J. O. Curso de infecções por nematóides gastrintestinais em ovinos criados no município de Campos dos Goytacazes - Norte Fluminense. **Revista da Universidade Rural - Série Ciências da Vida,** Seropédica -RJ, v. 23, nº1, p. 317-318, 2003.

SANTOS, C.P. Fungos nematófagos. In: **Simpósio sobre controle de parasitas em pequenos ruminantes. tema: avanços e alternativas,** São Paulo, 17/03/05, p 60-85.

SANYAL, P.K., CHAUHAN, J.B., MUKHOPADHYAYA, P.N. Implications of fungicidal effects of benzimidazole compounds on *Duddingtonia flagrans* in integrated nematode parasite management in livestock. **Veterinary Research communications.** v. 28, p. 375-385, 2004.

VAN OORSCHOT CAN. Taxonomy of the Dactylaria complex. A review of Arthrobotrys and allied genera. **St. Micology.** v. 26, p. 61-95, 1985.

WALLER, P.J.; LARSEN, M. The role of nematophagous fungi in the biological control of nematode parasites of livestock. **International Journal for Parasitology**, v. 23, n. 8, p. 539-546, 1993.

WALLER PJ, LARSEN M, FAEDO M & HENNESSY DR. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: *in vitro* and *in vivo* studies. **Veterinary Parasitology**. v. 51, p. 289-299, 1994.

WALLER P. J., FAEDO, M., ELLIS, K. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: towards the development of a fungal controlled release device. **Veterinary Parasitology**. v. 102, p. 299-308, 2001.

WALLER P.J., SCHWAN, O., LJUNGSTROM, B.L., RYDZIK, A. and YEATES, G.W. Evaluation of biological control of sheep parasites using *Duddingtonia flagrans* under commercial farming conditions on the island of Gotland, Sweden. **Veterinary Parasitology**. v.126, p. 299 – 315, 2004.

WOLSTRUP J, GRØNVOLD J, HENRIKSEN SA, NANSEN P, LARSEN M, BØGH HO & ILSØE B. An attempt to implement the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* in biological control of trichostrongyle infections of first year grazing calves. **Journal of Helminthology**. v. 68, p. 175-180, 1994.



**ANEXO - MEIOS DE CULTURA**

Todos os meios de cultura serão esterilizado em autoclave por 20 minutos.

**➤ Agar-água**

1000 mL de H<sub>2</sub>O destilada \_\_\_\_\_ 24g de agar-água

200 mL de H<sub>2</sub>O destilada \_\_\_\_\_ 4,8g de agar-água

**➤ Agar-Sabouraud**

1000 mL de H<sub>2</sub>O destilada \_\_\_\_\_ 47g de sabouraud

200 mL de H<sub>2</sub>O destilada \_\_\_\_\_ 9,4g de sabouraud

**➤ Agar-milho**

1000 mL de H<sub>2</sub>O destilada \_\_\_\_\_ 500g de agar-milho \_\_\_\_\_ 15g de agar-bacteriológico

200 mL de H<sub>2</sub>O destilada \_\_\_\_\_ 4,8g de agar-água \_\_\_\_\_ 3g de agar-bacteriológico

**➤ Agar-aveia**

1000 mL de H<sub>2</sub>O destilada \_\_\_\_\_ 375g de aveia \_\_\_\_\_ 15g de agar-bacteriológico

40 mL de H<sub>2</sub>O destilada \_\_\_\_\_ 15g de aveia \_\_\_\_\_ 0,6g de agar-bacteriológico

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)